

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20230904001

http://www.yykxjz.cn/

刘妮, 于永翔, 王印庚, 张正, 王春元, 廖梅杰, 荣小军, 庞明海, 李京泽. 浒苔暴发前后青岛沿岸水体和藻体的细菌群落结构与生态环境因子相关性分析. 渔业科学进展, 2024, 45(6): 24–37

LIU N, YU Y X, WANG Y G, ZHANG Z, WANG C Y, LIAO M J, RONG X J, PANG M H, LI J Z. Correlation analysis of bacterial community structure and eco-environmental factors in water and algae along Qingdao Coast before and after the outbreak of *Ulva prolifera*. Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(6): 24–37

浒苔暴发前后青岛沿岸水体和藻体的 细菌群落结构与生态环境因子相关性分析*

刘 妮^{1,3} 于永翔^{1,2} 王印庚^{1,2①} 张 正^{1,2} 王春元^{1,2}
廖梅杰^{1,2} 荣小军^{1,2} 庞明海¹ 李京泽¹

- (1. 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 山东 青岛 266071;
2. 青岛海洋科技中心海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 山东 青岛 266237;
3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 自 2008 年起, 浒苔(*Ulva prolifera*)暴发给海洋环境生态、水产养殖业、旅游业和公共卫生带来严重影响。为进一步探究浒苔暴发对近岸环境中细菌群落结构与生态因子的影响, 本研究对浒苔暴发前后青岛沿岸主要滨海区域水体、浒苔藻体中可培养细菌群落的组成与丰度及环境理化指标进行了比较分析。结果显示, 浒苔暴发后, 青岛沿岸水体的化学需氧量(COD)、氨氮、无机氮、砷离子和活性磷酸盐含量均显著升高($P<0.05$), 溶解氧、Cd、Pb、Cr、Cu 等金属离子的含量显著降低($P<0.05$); 聚集地浒苔藻体中有机碳含量低于非聚集地($P<0.05$), 大肠菌群、粪大肠菌群、硫化物、Hg、Cd、Zn 和 Cu 离子含量高于非聚集地($P<0.05$)。可培养细菌分析结果显示, 浒苔暴发后, 青岛市沿岸水体与藻体中可培养细菌的数量增长超 1 个数量级, 弧菌(*Vibrio*)占比增加了 38%; 基于 16S rDNA 的细菌鉴定结果显示, 浒苔暴发前, 青岛市沿岸海水中的主要优势菌为长巨牡蛎弧菌(*Vibrio gigantis*)、塔斯玛尼亚弧菌(*Vibrio tasmaniensis*)和大西洋弧菌(*Vibrio atlanticus*); 浒苔暴发后, 青岛市沿岸海水中的主要优势菌为强壮弧菌(*Vibrio fortis*)、溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)和欧文斯氏弧菌(*Vibrio owensii*)。优势弧菌的毒力基因与耐药基因携带风险检测结果表明, 浒苔暴发后, 弧菌携带毒力基因(*VAC*、*vhh*、*chxA*、*tlh* 和 *flaA*)和耐药基因(*strA*、*strB*、*QnrVC* 和 *sul2*)的类别和检出率均增高。研究结果初步揭示了浒苔暴发对青岛市沿岸环境中细菌群落结构及环境生态的影响, 查明了浒苔暴发产生的有害微生物种类及其携带的毒力基因、耐药基因风险, 为黄渤海近岸海域浒苔绿潮防控、海洋生态保护、水产健康养殖和公共卫生治理提供了理论依据。

关键词 浒苔; 绿潮; 生态环境因子; 可培养细菌; 弧菌; 毒力基因; 耐药基因

中图分类号 S917.1 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2024)06-0024-14

绿潮是由海水中某些大型绿藻在一定时期内暴发性增殖导致的海洋生态异常现象(吉启轩等, 2015)。

* 山东省重点研发计划(科技示范工程)(2021SFGC0701)、青岛市海洋科技创新专项(22-3-3-hygg-3-hy)和中国水产科学研究院基本科研业务费(2020TD40)共同资助。刘 妮, Email: 2077465925@qq.com

① 通信作者: 王印庚, 研究员, Email: wangyg@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2023-09-04, 收修改稿日期: 2023-10-11

大量漂浮藻类形成的绿潮无法在短时间内得到有效处置将导致绿藻堆积、腐烂, 进而对沿海生态景观产生影响(Ye *et al.*, 2011)。自然资源部海洋预警监测司(2023)发布的《2022 年中国海洋灾害公报》显示, 近年来引发我国黄海海域大面积绿潮灾害的主要藻类为浒苔(*Ulva prolifera*), 浒苔绿潮分布面积最高可达 18 002 km², 覆盖面积最高可达 135 km²。浒苔具有营养吸收效率高、生长速度快和繁殖能力强的特点, 比其他物种具有更明显的竞争优势(Luo *et al.*, 2012)。

浒苔暴发的具体原因当前仍不完全清晰, 目前的研究主要将其归结为海水富营养化、春夏季水温变化和增殖海域水动力交换缓慢导致局部种群密度增大等因素(Leskinen *et al.*, 2004)。浒苔的发生与环境因素密不可分, 适宜的温度、盐度、溶解氧(DO)和 pH 为浒苔绿潮的暴发提供了一定的环境条件(夏斌等, 2009; 葛红星等, 2019)。浒苔的暴发易导致水体缺氧、变酸、富营养化等严重的环境生态问题, 并且与水中的其他生物竞争营养, 对海水生态环境和海洋生物造成不良影响(刘牧时, 2021)。暴发后期, 浒苔沉入海底或悬浮在一定深度后死亡, 并被微生物分解, 会大量消耗水体中的 O₂, 造成水体缺氧(Hardison *et al.*, 2010)。而腐烂释放的 C、N、P 等物质降低了海水水质, 且影响异养微生物的繁殖和代谢(Ogawa *et al.*, 2015)。同时, 浒苔腐败导致大量的 CO₂ 溶解到海水中, 降低海水的 pH, 加速海洋酸化, 对海洋生态造成持续深远的影响(Witt *et al.*, 2011)。

目前, 关于浒苔暴发对环境生态影响的报道较多关注于暴发时的环境生态瞬时变化及其响应, 而对浒苔暴发前后水体的自净作用效果及其微生物的生态风险的评估缺乏研究。因此, 全面了解浒苔暴发前后水体和藻类中理化因子及菌群变化情况, 并进一步评估主要优势菌的毒力和耐药性携带风险, 对深入解析浒苔暴发对环境生态的影响机制具有重要意义。

基于此, 本研究通过对青岛市沿岸海域绿潮暴发前后水体和藻体中理化因子和可培养细菌丰度、群落结构变化及主要优势菌的毒力和耐药基因携带风险进行评估, 分析了绿潮暴发对青岛市沿岸水体和藻体中可培养细菌多样性以及环境生态特性的影响。相关研究结果将为黄渤海近岸海域生态系统的保护及公共卫生、水产养殖安全提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

黄渤海地区绿潮暴发期为每年的 5—8 月(6—7

月为高峰期), 本研究于浒苔暴发前 1 个月(4 月上旬)和暴发后 1 个月(9 月下旬)为考察时间, 依据山东省青岛市海岸线分布状况及区域属性, 在黄岛区、市南区和崂山区共设定 6 个采样点, 包括 3 种不同生境特点(内湾、浴场和外围海域)作为青岛近岸生态环境的代表。其中, 琅琊湾(35°38'59.2"N; 119°55'26.1"E)和鲁迅公园(36°3'25.7"N; 120°18'43.1"E)采样点为内湾, 水流交换弱, 兼有岩岸和滩岸, 底泥沙; 金沙滩(35°57'19.0"N; 120°14'35.9"E)和龙湾(35°39'42.1"N; 119°54'29.4"E)采样点属于浴场, 沿岸有大面积的海滩, 水流交换适中; 小麦岛(36°3'13.5"N; 120°25'48.6"E)和凤凰山(35°58'7.8"N; 20°16'20.0"E)采样点属外围海域, 水流交换频繁, 以焦岩和碎石为主。样品编号: 黄岛琅琊地区 LY (暴发前 LY1, 暴发后 LY2)、鲁迅公园 LX (暴发前: LX1; 暴发后: LX2)、金沙滩 JS (暴发前: JS1; 暴发后: JS2)、龙湾 LW (暴发前: LW1; 暴发后: LW2)、小麦岛 XM (暴发前: XM1; 暴发后: XM2)、凤凰山 FH (暴发前: FH1; 暴发后: FH2)。其中, 琅琊采样点绿潮暴发期间有大量浒苔聚集, 表述为浒苔聚集地; 龙湾、金沙滩、凤凰山、小麦岛和鲁迅公园采样点绿潮暴发期间浒苔未大量聚集, 表述为非聚集地。

样品采集方式: 在距岸边约 15 m、深度约 3 m 处采集水样, 每个采样点采集水样 5 L, 装入 2 个无菌塑料桶中, 并利用 YSI 测定水体温度、pH、盐度等理化指标。采用无菌保鲜袋采集沿岸藻类或浒苔聚集物样品 500 g, 4 °C 低温打包带回实验室。

1.2 水体及藻类聚集物的环境理化因子检测

参照《海洋监测规范 第 7 部分: 近海污染生态调查和生物监测》(GB 17378.7-2007)测定水体中大肠菌群和粪大肠菌群含量, 参照《海洋监测规范 第 4 部分: 近海污染生态调查和生物监测》(GB 17378.4-2007)测定水体中化学需氧量(COD)、生化需氧量(BOD)、氨氮、亚硝酸盐、活性磷酸盐、无机氮、氰化物、As 和 Hg 离子含量, 参照《GB3097-1997 海水水质标准》测定水体中非离子氨含量, 参照《HY/T147.1-2013 海洋监测技术规程第 1 部分: 海水》测定水体中 Cu、Zn、总 Cr、Ni、Cd 和 Pb 离子含量(测定标准参照《中华人民共和国国家标准》HY/T 147.1-2013), 参照《水质硫化物的测定 亚甲基蓝分光光度法》(HJ 1226-2021)测定水体中硫化物含量, 参照《近岸海域环境监测规范》(HJ 442.3-2020)测定水体中 Se 离子含量。针对藻体及浒苔聚集物等藻类样品, 参照《海洋监测规范 第 5 部分: 沉积物分析》

(GB 17378.5-2007)对采集的藻类样品进行有机碳、硫化物、大肠菌群、粪大肠菌群、Hg 和 As 离子含量的检测,参照《海洋监测技术规程 第 2 部分:沉积物》(HY/T 147.2-2013)进行藻类样品中 Cd、Pb、Zn、Cu 和 Cr 离子含量的检测。共检测 5 个采样点的海水样品和 2 个采样点的藻体样品,每个样品设置 3 个重复组。

1.3 水体及藻体中可培养细菌检测

利用 10 倍梯度稀释法将采集的水样稀释至一定倍数后,吸取 100 μL 涂布于 TSB (胰蛋白胨大豆肉汤)培养基和 TCBS (TCBS 琼脂)培养基上,于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中倒置培养 24 h;称取 1 g 藻类样品,充分研磨后加入无菌 1.5% NaCl 溶液制成悬液,梯度稀释一定倍数后涂布到 TSB 和 TCBS 培养基上,28 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 24 h,每个样品 3 组平行实验。根据相应平板上的菌落数计算可培养细菌和弧菌总数,并计算弧菌占比。弧菌占比(%)=可培养弧菌总数 $\div$ 可培养细菌总数 $\times$ 100%。

1.4 优势菌鉴定

根据菌落的形态、颜色、大小、透明度等对平板上的细菌进行初步筛选和统计,随后挑取优势度较高的细菌单菌落进行纯化培养,并将纯化的单菌落置于保种液中,冻存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内。同时,挑取纯化后

的单菌落,重悬于 100 μL ddH₂O 中,99 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴裂解 15 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 2 min 后取上清液,测定菌体 DNA 浓度后,采用无菌 ddH₂O 调整浓度至约 100 $\mu\text{g/mL}$,用作 PCR 模板 DNA,每个菌株设置 3 个重复。利用引物 27F/1492R (Xiong *et al*, 2014)进行 16S rDNA 序列扩增,扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测序合格的核酸序列通过 NCBI 数据库进行比对,确定病原所属种类。

1.5 优势菌中毒力和耐药基因检测

采用普通 PCR 检测方法对优势菌株中 4 种耐药基因和 5 种毒力基因的携带风险进行检测,实验用毒力基因和耐药基因为常见弧菌病原菌的普遍检出耐药基因和毒力基因(Yu *et al*, 2023),耐药基因包括:氨基糖甙类 *strA*、*strB*,喹诺酮类 *QnrVC*,磺胺类 *sul2*;毒力基因包括 *VAC*、*vhh*、*tlh*、*luxR*、*chxA* 和 *flaA*。扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、依据 T_m 值设置退火温度退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s,循环 30 次;72 $^{\circ}\text{C}$ 温育 5 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,PCR 产物通过 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。毒力基因与耐药基因引物及其退火温度等信息见表 1 (Yu *et al*, 2023),每个菌株设置 3 个重复,设置阴性对照和阳性对照。

表 1 实验所用引物
Tab.1 Primers used in the experiment

种类 Species	引物 Primer	引物序列(5'~3') Primer sequence (5'~3')	片段大小 Amplicon size/bp	退火温度 Annealing temperature/ $^{\circ}\text{C}$
耐药基因 Resistance genes	<i>strA</i>	F: TGGCAGGAGGAACAGGAGG	405	60
		R: AGGTCGATCAGACCCGTGC		
	<i>strB</i>	F: GCGGACACCTTTTCCAGCCT	621	61
		R: TCCGCCATCTGTGCAATGCG		
	<i>QnrVC</i>	F: AATTTTAAGCGCTCAAACCTCCG	521	56
		R: TCCTGTTGCCACGAGCATATTTT		
毒力基因 Virulence genes	<i>sul2</i>	F: TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG	191	60
		R: CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG		
	<i>tlh</i>	F: AAAGCGGATTATGCAGAAGCACTG	450	58
		R: GCTACTTTCTAGCATTTTCTCTGC		
	<i>VAC</i>	F: TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG	737	58
		R: CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG		
	<i>vhh</i>	F: AAAGCGGATTATGCAGAAGCACTG	234	50
		R: GCTACTTTCTAGCATTTTCTCTGC		
	<i>flaA</i>	F: CGAGTACAGTCACTTGAAAGCC	128	60
		R: CACAACAGAACTCGCGTTACC		
	<i>chxA</i>	F: TTCACGCTTGATGGCTACTG	634	56
		R: GTCACCCAATGCTACGACCT		

1.6 数据分析

数据采用 IBM SPSS Statistics 26.0、Excel 2016、GraphPad Prism8.0 和 Origin 2022 软件处理, 结果以平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示。使用 SPSS 26.0 统计软件对浒苔暴发前后水体和藻体理化因子进行非参数检验(Mann-Whitney U test), $P<0.05$ 时差异显著; 使用 Origin 2022 分析软件分析可培养细菌与环境因子的相关性。

2 结果与分析

2.1 浒苔暴发前后青岛近岸环境生态基本属性差异

浒苔暴发前, 青岛近岸环境生态的基本属性良好(图 1A、B 和图 2A、B), 内湾地区(琅琊、鲁迅公园采样点)沿岸岸基状态良好, 岸边藻体呈青绿色; 浴场地区(金沙滩、龙湾采样点)岸基状态良好, 沿岸有大面积海滩, 仅在水中见有少量漂浮浒苔, 浒苔及石莼等藻类呈青绿色; 外围海域(麦岛、凤凰山采样点)岸基状态良好, 沿岸分布有海滩、大型岩石和草木等, 仅在水中见有少量漂浮浒苔, 藻体呈青绿色。

浒苔暴发后(图 1C、D), 青岛近岸环境生态的基本属性总体变差, 其中内湾地区海域环境生态变化尤其显著: 以琅琊采样点为例, 该处岸基状态差, 沿岸

海水中有大量腐烂浒苔沉积, 呈黑褐色, 似“石油”状, 向海内延伸几十米, 伴有刺鼻的恶臭味(图 1C、D); 同时, 自然状态的浒苔多呈短而细的褐绿色, 具有腐败迹象(图 2C、D)。

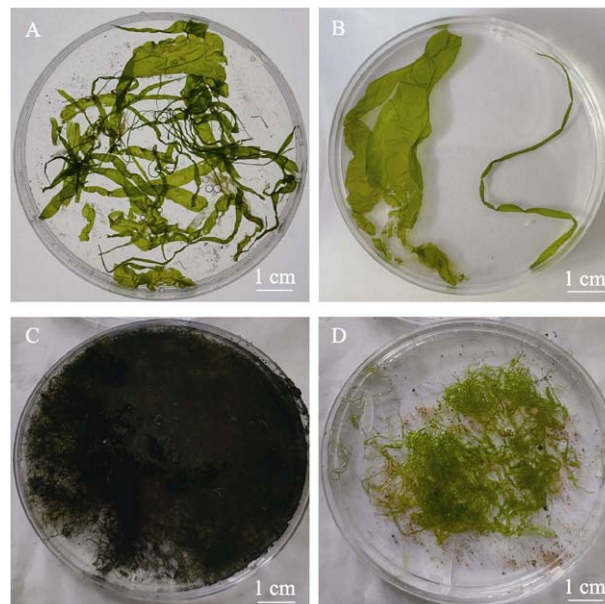


图 2 聚集处藻类样品外观形态

Fig.2 Appearance and morphology of algae samples at the gathering site

A、B: 暴发前琅琊采样点; C、D: 暴发后琅琊采样点。
A and B: Langya sampling site before the outbreak;
C and D: Langya sampling site after the outbreak.

2.2 浒苔暴发前后青岛沿岸水质理化因子变化特征分析

对浒苔暴发前后青岛沿岸的水质理化因子进行显著性分析, 其中有 10 个指标具有显著差异($P<0.05$) (图 3)。水体中 DO 含量由暴发前的 8.79~9.88 mg/L 下降至 4.48~7.44 mg/L ($P<0.05$), 其中, 内湾地区浒苔聚集地 LY2 采样点的 DO 值降低最为显著, 下降至 4.48 mg/L。COD、氨氮含量、无机氮含量、砷离子含量、活性磷酸盐含量较暴发期均显著升高; Cd、Pb、Cr、Cu 等金属离子的含量均显著降低, 但各采样点之间无明显区别。盐度、pH、大肠菌群、粪大肠菌群、生化需氧量(BOD₅)、亚硝酸盐、非离子氨、Hg、Zn、Se、Ni、氰化物和硫化物含量在浒苔暴发前后无显著差异。

差异分析表明, 浒苔暴发前, 开放式海滩(龙湾地区, LW)无机氮含量显著高于内湾和市内外围海域(凤凰山和小麦岛); Cd 离子在内湾(琅琊地区, LY)的检出量显著高于海水浴场和市内外围海域。浒苔



图 1 琅琊内湾浒苔聚集地环境生态状况

Fig.1 Environmental and ecological status of *U. prolifera* gathering area at Langya sampling site in basin

A、B: 暴发前琅琊采样点; C、D: 暴发后琅琊采样点。
A and B: Langya sampling site before the outbreak;
C and D: Langya sampling site after the outbreak.

暴发后,理化因子在各采样点间具有的差异性有所不同,氨氮、无机氮和 COD 含量在内湾地区显著高于浴场和外围海域,且三者在内湾浒苔聚集地(琅琊地区,LY)的含量最高,但 DO 值明显低于其他地区(图 3)。

暴发前后浒苔聚集地(内湾琅琊地区,LY1、LY2)与非聚集地(开放式海滩龙湾地区,LW1、LW2)浒苔样品中有机物和金属离子的差异分析表明二者具有明显差异(图 4)。暴发前,浒苔聚集地藻体中有机碳、

Hg、Cd、Pb 和 Cu 离子含量低于非聚集地;暴发后,浒苔聚集地藻体中有机碳含量仍低于非聚集地,但大肠菌群、粪大肠菌群、硫化物、Hg、Cd、Zn 和 Cu 离子含量高于非聚集地,其中,大肠菌群和粪大肠菌群仅在聚集地有检出,含量为 49 MPN/kg 和 23 MPN/kg,硫化物含量也由暴发前的 139 mg/kg 增加至 2.19×10^4 mg/kg。在浒苔聚集地,浒苔暴发后比之暴发前 Cd、Cr、As、硫化物含量均升高,其中,硫化物仅在浒苔暴发后有检出,含量为 2.19×10^4 mg/kg。

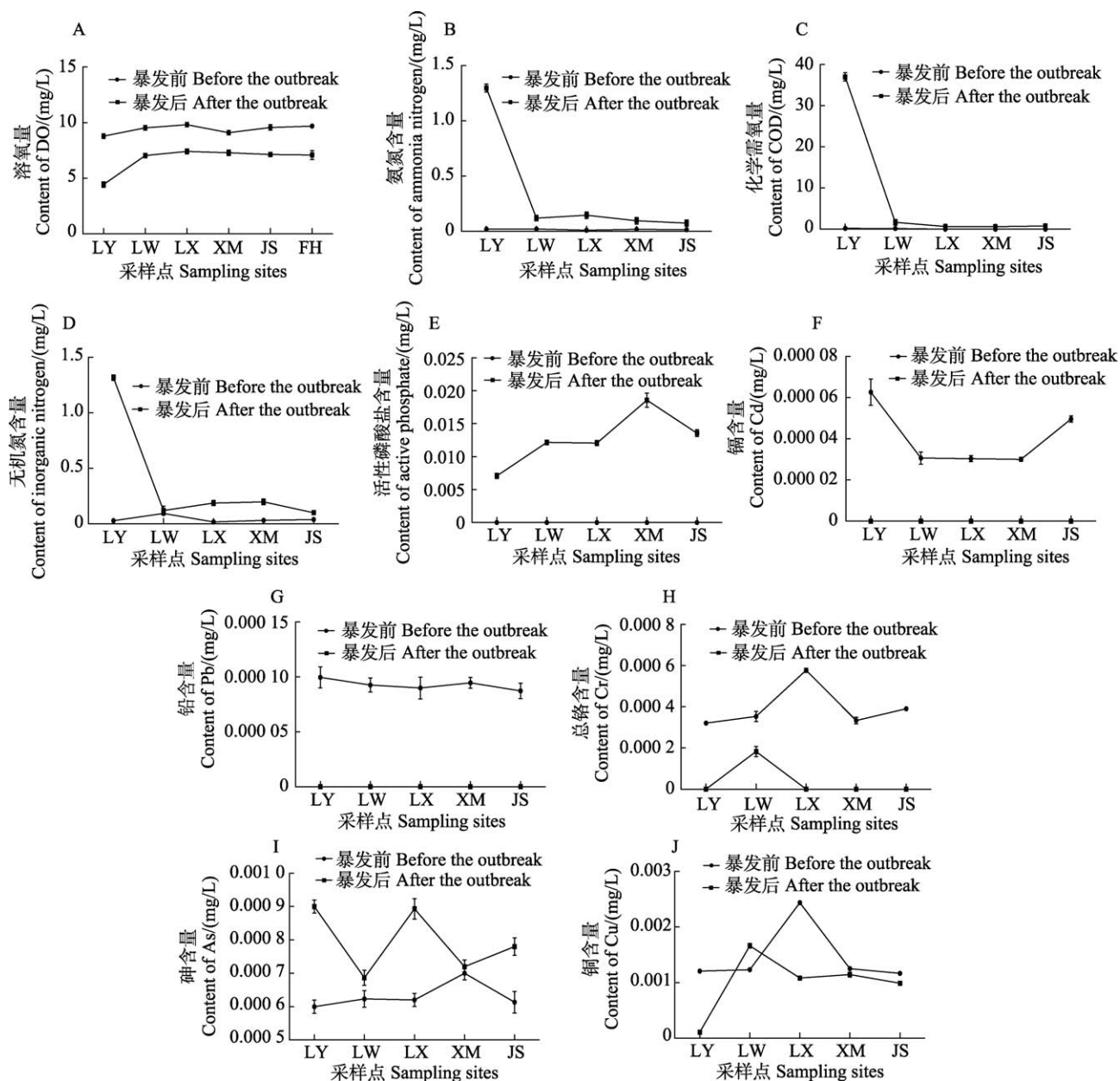


图 3 浒苔暴发前后水体中环境因子的变化情况

Fig.3 Changes in environmental factors in water before and after the outbreak of *U. prolifera*

LY: 琅琊地区; LW: 龙湾地区; LX: 鲁迅公园; XM: 小麦岛; JS: 金沙滩; FH: 凤凰山。

LY: Langya region; LW: Longwan region; LX: Lu Xun Park; XM: Xiaomaidao Island; JS: Golden Beach; FH: Fenghuang Mountain.

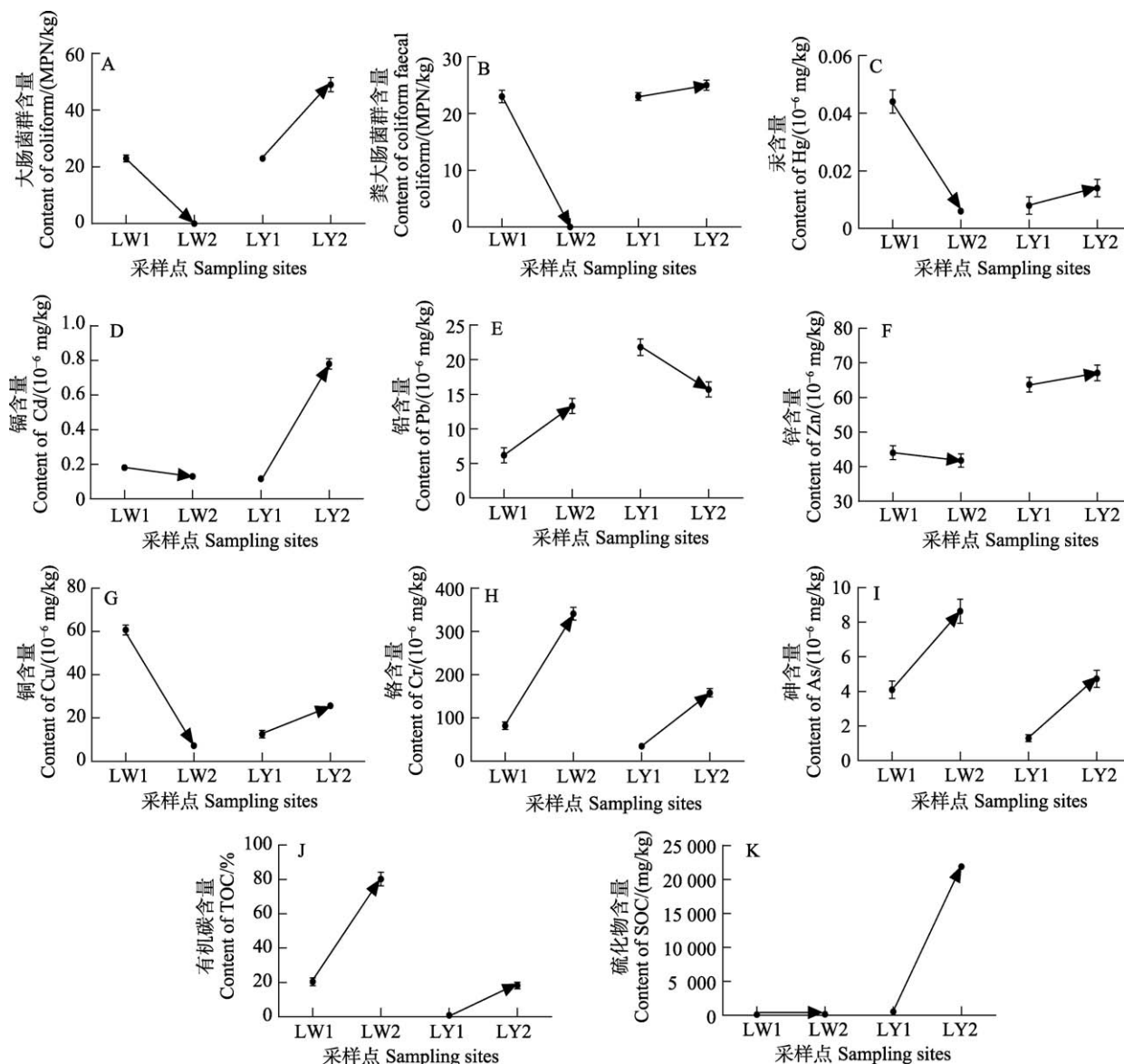


图 4 浒苔暴发前后聚集区与非聚集区浒苔中生物有机物和金属离子的变化

Fig.4 Changes in biological organics and metal ions in the clustered and non-clustered areas of *U. prolifera* before and after the outbreak

LY1: 暴发前琅琊地区; LW1: 暴发前龙湾地区; LY2: 暴发后琅琊地区; LW2: 暴发后龙湾地区。

LY1: Langya region before *U. prolifera* outbreak; LW1: Longwan region before *U. prolifera* outbreak; LY2: Langya region after *U. prolifera* outbreak; LW2: Longwan region after *U. prolifera* outbreak.

2.3 浒苔暴发前后青岛沿海水体中可培养细菌丰度差异分析

青岛沿岸海水和藻体中可培养细菌数量随浒苔的暴发而增加, 其中, 可培养弧菌由暴发前的 9.65×10^4 CFU/mL (占比 7%) 增长到暴发后的 1×10^7 CFU/mL (占比 45%), 增幅超 2 个数量级 (图 5)。对各采样点可培养细菌丰度进行分析表明, 暴发前可培养细菌数量为 $1.91 \times 10^4 \sim 9.3 \times 10^5$ CFU/mL, 均值为 2.2×10^5 CFU/mL, 其中琅琊采样点可培养细菌数量最

多 (9.3×10^5 CFU/mL), 市内内湾鲁迅公园采样点可培养弧菌数量最多 (1.15×10^5 CFU/mL)。暴发后, 可培养细菌数量为 $5.01 \times 10^4 \sim 6.65 \times 10^6$ CFU/mL, 均值为 2.22×10^6 CFU/mL, 相较暴发前可培养细菌数量增长超 1 个数量级, 可培养细菌和弧菌数量均达到 10^6 CFU/mL, 增长 1~2 个数量级; 浒苔暴发后, 6 个采样点中 5 个采样点的可培养细菌和弧菌丰度均发生了增长, 仅浒苔聚集地的 LY2 采样点可培养细菌和弧菌数量发生了下降, 其中, 可培养细菌由 9.3×10^5 CFU/mL 下降至 5.01×10^4 CFU/mL, 弧菌数量

由 6.31×10^4 CFU/mL 下降至 1.79×10^4 CFU/mL (图 6)。

为探究环境因子变化对水体和藻样中可培养细菌及弧菌数量的影响,将水体中可培养细菌和弧菌数量、藻样中可培养细菌和弧菌数量、水体和藻样中可培养细菌和弧菌总数与环境因子进行 Spearman 检验 (图 7)。结果表明,水体和浒苔样品中可培养细菌丰度受温度、pH、氨氮、亚硝酸盐、无机氮、活性磷

酸盐、总 Cr 和 Ni 等环境因子的影响。其中, pH、温度、亚硝酸盐、活性磷酸盐与浒苔样品中弧菌的丰度呈正相关, Ni、总 Cr 与浒苔样品中弧菌的丰度呈负相关; 水体中弧菌数量随活性磷酸盐含量的增加而升高, 随 Ni 离子的增加而降低; 总弧菌数量随亚硝酸盐和活性磷酸盐的增加而增加, 随总 Cr 和 Ni 离子的增加而降低。

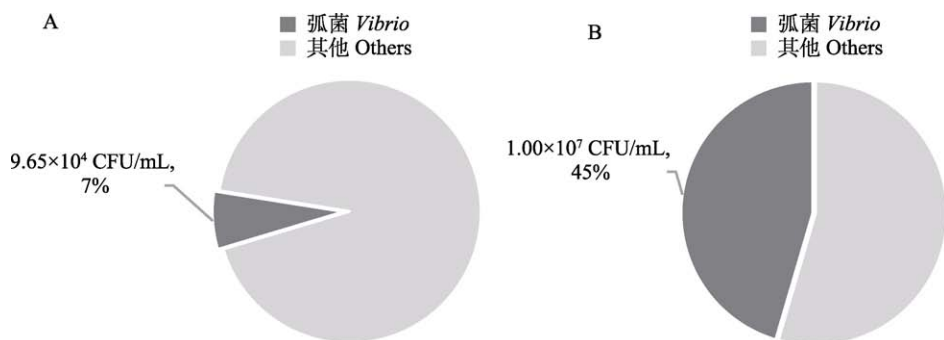


图 5 浒苔暴发前后可培养细菌中的弧菌占比

Fig.5 Proportion of *Vibrio* in total culturable bacteria before and after the outbreak of *U. prolifera*

A: 暴发前; B: 暴发后。

A: Before the outbreak; B: After the outbreak.

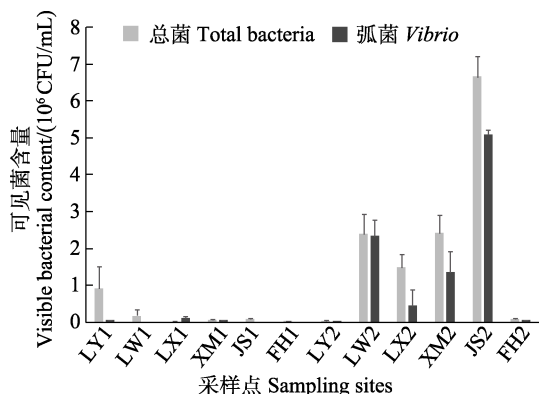


图 6 浒苔暴发前后各采样点的可培养细菌数量

Fig.6 Number of culturable bacteria in the sampling sites before and after the outbreak of *U. prolifera*

LY1: 暴发前琅琊地区; LW1: 暴发前龙湾地区; LX1: 暴发前鲁迅公园; XM1: 暴发前小麦岛; JS1: 暴发前金沙滩; FH1: 暴发前凤凰山; LY2: 暴发后琅琊地区; LW2: 暴发后龙湾地区; LX2: 暴发后鲁迅公园; XM2: 暴发后小麦岛; JS2: 暴发后金沙滩; FH2: 暴发后凤凰山。

LY1: Langya region before *U. prolifera* outbreak; LW1: Longwan region before *U. prolifera* outbreak; LX1: Lu Xun Park before *U. prolifera* outbreak; XM1: Xiaomaidao Island before *U. prolifera* outbreak; JS1: Jinshatan before *U. prolifera* outbreak; FH1: Fenghuang Mountain before *U. prolifera* outbreak; LY2: Langya region after *U. prolifera* outbreak; LW2: Longwan region after *U. prolifera* outbreak; LX2: Lu Xun Park after *U. prolifera* outbreak; XM2: Xiaomaidao Island after *U. prolifera* outbreak; JS2: Jinshatan after *U. prolifera* outbreak; FH2: Fenghuang Mountain after *U. prolifera* outbreak.

2.4 浒苔暴发前后青岛沿岸海水中可培养细菌组成差异分析

浒苔暴发前后各采样点中共获得 158 株优势菌。浒苔暴发前的 79 株优势菌中弧菌有 62 株, 分属 22 个种, 浒苔暴发后的优势菌中弧菌有 65 株, 分属 24 个种 (表 2)。

浒苔暴发前, 各采样点中长巨牡蛎弧菌 (*Vibrio gigantis*) 均有检出 (检出率 100%)。相对丰度分析表明, 在所有采样点中, 长巨牡蛎弧菌为主要优势菌, 相对丰度最高达 32.91%。结合菌株在采样点中的出现频次和相对丰度可知, 长巨牡蛎弧菌 (100%, 32.91%)、塔斯玛尼亚弧菌 (*V. tasmaniensis*) (83.3%, 11.39%) 和大西洋弧菌 (*V. atlanticus*) (83.3%, 8.86%) 是浒苔暴发前青岛沿岸海域可培养细菌的优势种。对各采样点中的这 3 种优势菌的检出频次进行统计分析可知, 内湾地区优势菌检出频次最多为 20 株 (次), 外围海域优势菌检出频次最少为 8 株 (次)。浒苔暴发后, 各采样点中强壮弧菌 (*V. fortis*) 均有检出 (检出率 100%), 相对丰度分析表明, 在所有采样点中, 强壮弧菌相对丰度最高, 达 22.78%。结合菌株在采样点中的出现频次和相对丰度可知, 强壮弧菌 (100%, 22.78%)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*) (66.7%, 17.72%) 和欧文斯氏弧菌 (*V. owensii*) (66.7%, 8.86%) 是浒苔暴发后青岛沿岸海

域可培养细菌的优势种。对各采样点中的这 3 种优势菌的检出频次进行统计分析可知, 浴场地区优势菌检出频次最多为 18 株(次), 外围海域优势菌检出频次最少为 7 株(次)(图 8)。

综上, 浒苔暴发前后青岛沿岸海水和藻类中可培养优势菌均为弧菌属细菌, 但弧菌的种类组成在浒苔暴发前后发生了改变, 优势菌种类由浒苔暴发前的长巨牡蛎弧菌、塔斯玛尼亚弧菌和大西洋弧菌变为暴发后的强壮弧菌、溶藻弧菌和欧文斯氏弧菌。

2.5 水产养殖生物潜在病原菌毒力风险评估

对浒苔暴前沿岸水体和藻体样品中分离到的 54 株优势菌(长巨牡蛎弧菌、塔斯玛尼亚弧菌、大西洋弧菌、灿烂弧菌 *V. splendidus*、嗜环弧菌 *V. cyclitrophicus*) 和浒苔暴发后分离到的 60 株优势菌(强壮弧菌、溶藻弧菌、欧文斯氏弧菌、塔氏弧菌 *V. tubiashii*、海生弧菌 *V. maritimus*、霍乱弧菌 *V. cholerae*、齐氏弧菌 *V. chagasii*、加勒比弧菌 *V. caribbeanicus*、轮虫弧菌 *V. rotiferianus*、嗜环弧菌)进行弧菌常见毒力基因和耐药基因的携带风险检测(表 3)。结果表明, *VAC*、*vhh*、*chxA*、*tlh* 和 *flaA* 等 5 种毒力基因与 *strA*、*strB*、*QnrVC* 和 *sul2* 等 4 种耐药基因均被检测到。其中, 浒苔暴发前有 39 株菌中检测到了毒力基因, 包括 *tlh* 和 *flaA*, 检出率分别为 20.07%和 48.14%(图 9A), 浒苔暴发后

有 52 株菌中检测到了 5 种毒力基因的携带, 检出率在 8.33%~58.33% (图 9A); 4 种耐药基因在浒苔暴发前均未检测到, 浒苔暴发后, *strA*、*strB*、*QnrVC* 和 *sul2* 的检出率分别为 13.33%、8.33%、1.85%和 8.33% (图 9B)。因此, 浒苔暴发前后从水体和浒苔中分离到的优势菌中常见毒力基因的分布有很大的差异, 浒苔暴发后比暴发前优势菌中毒力基因和耐药基因的检出率明显升高。

3 讨论

本研究发现, 浒苔暴发后岸边及沿岸海水中有大量腐烂浒苔沉积, 内湾浒苔聚集地伴有刺鼻的恶臭味, 岸基下腐烂浒苔可周年残留。浒苔暴发后比暴发前 DO (尤其是浒苔聚集地的 DO)含量显著降低, 砷离子、氨氮、COD、无机氮、活性磷酸盐含量显著增长。浒苔暴发会对海水的含氧量和 pH 值产生影响, 导致水体出现缺氧和偏酸的状态(刘牧时, 2021)。浒苔暴发后, 水体中砷离子含量升高, 而 As 能以多种形式富集到海洋藻类和生物体中, 最终通过食物链的累积作用到达人体, 对人体健康造成危害(Clowes *et al*, 2004; Francesconi *et al*, 2004; Schaeffer *et al*, 2006)。氨氮是一种自然水体中广泛存在的无机污染物, 能够加剧水体富营养化, 且对水生动物有毒害效应(Chen

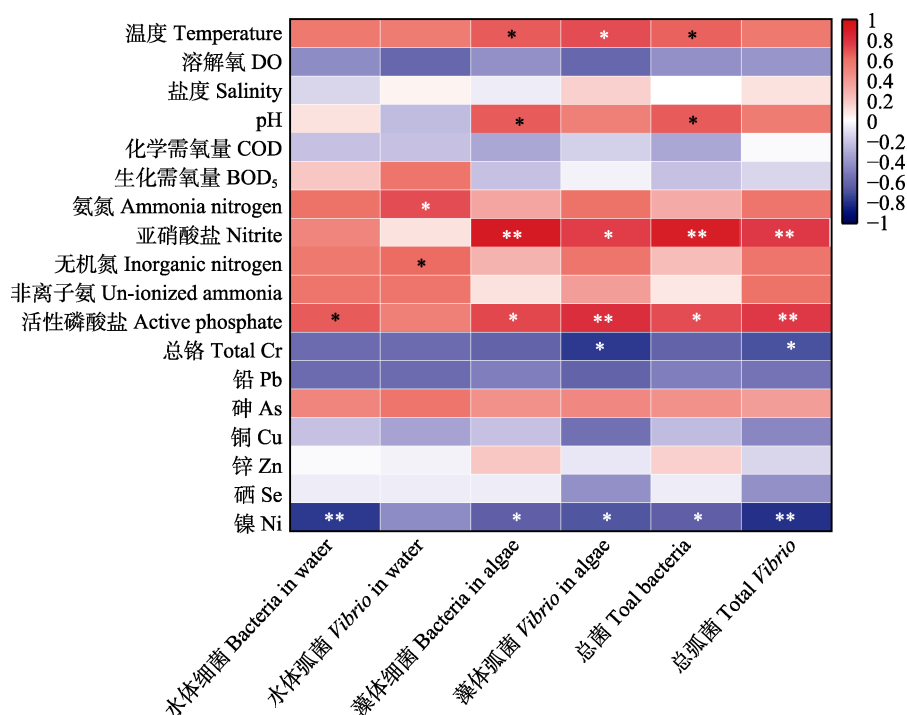


图 7 浒苔暴发前后青岛沿岸水体与藻体细菌丰度与环境因子的关系

Fig.7 Relationship between bacterial abundance and environmental factors in the coastal waters and algae of Qingdao before and after the outbreak of *U. prolifera* (* $P<0.05$, ** $P<0.01$)

表 2 16S rDNA 菌种鉴定结果
Tab.2 16S rDNA strain identification results

暴发前 Before the <i>U. prolifer</i> a outbreak		暴发后 After the <i>U. prolifer</i> a outbreak	
菌种名称 Strain name	数量/株 Quantity/piece	菌种名称 Strain name	数量/株 Quantity/piece
长巨牡蛎弧菌 <i>V. gigantis</i>	26	强壮弧菌 <i>V. fortis</i>	18
塔斯玛尼亚弧菌 <i>V. tasmaniensis</i>	9	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	14
大西洋弧菌 <i>V. atlanticus</i>	7	欧文斯氏弧菌 <i>V. owensii</i>	7
灿烂弧菌 <i>V. splendidus</i>	6	塔氏弧菌 <i>V. tubiashii</i>	5
嗜环弧菌 <i>V. cyclitrophicus</i>	6	海生弧菌 <i>V. maritimus</i>	5
产黑假交替单胞菌 <i>Pseudoalteromonas nigrifaciens</i>	4	霍乱弧菌 <i>V. cholerae</i>	3
交替假单胞 <i>P. elyakovii</i>	4	齐氏弧菌 <i>V. chagasii</i>	3
托兰佐尼亚弧菌 <i>V. toranzoniae</i>	2	加勒比弧菌 <i>V. caribbeanicus</i>	2
迟缓弧菌 <i>V. lentus</i>	2	轮虫弧菌 <i>V. rotiferianus</i>	2
蒲梅利氏弧菌 <i>V. pomeroyi</i>	2	副氧化微杆菌 <i>Microbacterium paraoxydans</i>	2
海口芽孢杆菌 <i>Bacillus haikouensis</i>	1	深海微小杆菌 <i>Exiguobacterium profundum</i>	2
盐场咸海鲜芽孢杆菌 <i>Mesobacillus jeotgali</i>	1	约氏不动杆菌 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	2
冰川冷杆菌 <i>Psychrobacillus glaciei</i>	1	塩屋埼假交替单胞菌 <i>P. shioyasakiensis</i>	2
鱼发光杆菌 <i>Photobacterium piscicola</i>	1	海泥发光菌 <i>Photobacterium lutimaris</i>	2
北极假交替单胞菌 <i>P. arctica</i>	1	墨西哥弧菌 <i>V. mexicanus</i>	1
喜电极希瓦氏菌 <i>Shewanella electrodiphila</i>	1	伴生弧菌 <i>V. comitans</i>	1
竹刀鱼希瓦氏菌 <i>S. sairae</i>	1	肝弧菌 <i>V. hepatarius</i>	1
福氏嗜冷杆菌 <i>Psychrobacter fozii</i>	1	溶珊瑚弧菌 <i>V. coralliilyticus</i>	1
鳗弧菌 <i>V. anguillarum</i>	1	巴西弧菌 <i>V. brasiliensis</i>	1
<i>V. ulleungensis</i>	1	嗜环弧菌 <i>V. cyclitrophicus</i>	1
卡那罗弧菌 <i>V. kanaloae</i>	1	海岸微小杆菌 <i>E. aestuarii</i>	1
大牡蛎弧菌 <i>V. crassostreae</i>	1	海藻希瓦氏菌 <i>S. algae</i>	1
		海水盐单胞菌 <i>Halomonas aquamarina</i>	1
		阿拉伯海假交替单胞菌 <i>P. arabiensis</i>	1

et al, 2010; 孟振等, 2020)。COD 表示水中还原性物质含量，COD 越高，说明水体受有机物污染越严重(Kawabe et al, 1997)。研究发现，浒苔暴发后，COD 含量显著升高，说明浒苔暴发后有机物污染加剧。无机氮和活性磷酸盐浓度过高容易引起水体富营养化，从而导致有害赤潮的发生(王燕等, 2021)。

Lin 等(2017)研究发现，有浒苔池塘细菌群落的多多样性和丰富度高于无浒苔池塘。王春忠等(2017)研

究发现，浒苔具有抑制和增加不同致病菌的双重作用。本研究发现，浒苔暴发前后海洋环境中有害菌的增殖变化属性不同，浒苔暴发后海洋环境中可培养细菌的种类和丰度均增加。浒苔暴发后，海水环境可培养细菌的群落结构发生改变，浒苔暴发前，青岛沿岸海水环境中的主要优势菌为长巨牡蛎弧菌、塔斯玛尼亚弧菌和大西洋弧菌，而随着浒苔的暴发，该类优势菌的丰度降低，暴发后的优势菌变为强壮弧菌、溶藻

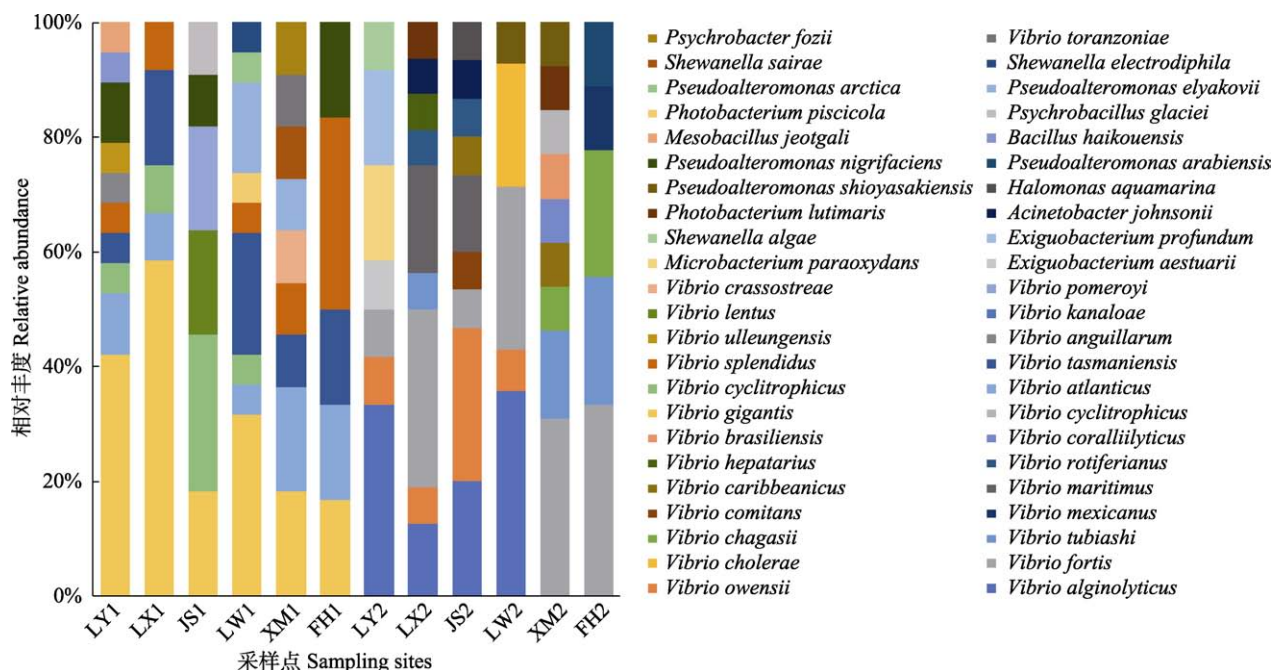


图 8 浒苔暴发前后各采样点可培养细菌相对丰度图

Fig.8 Relative abundance of cultivable bacteria at sampling sites before and after the outbreak of *U. prolifera*

LY1: 暴发前琅琊地区; LW1: 暴发前龙湾地区; LX1: 暴发前鲁迅公园; XM1: 暴发前小麦岛;
 JS1: 暴发前金沙滩; FH1: 暴发前凤凰山; LY2: 暴发后琅琊地区; LW2: 暴发后龙湾地区; LX2: 暴发后鲁迅公园;
 XM2: 暴发后小麦岛; JS2: 暴发后金沙滩; FH2: 暴发后凤凰山。
 LY1: Langya region before *U. prolifera* outbreak; LW1: Longwan region before *U. prolifera* outbreak; LX1: Lu Xun Park before *U. prolifera* outbreak; XM1: Xiaomai Island before *U. prolifera* outbreak; JS1: Jinshatan before *U. prolifera* outbreak; FH1: Fenghuang Mountain before *U. prolifera* outbreak; LY2: Langya region after *U. prolifera* outbreak; LW2: Longwan region after *U. prolifera* outbreak; LX2: Lu Xun Park after *U. prolifera* outbreak; XM2: Xiaomai Island after *U. prolifera* outbreak; JS2: Jinshatan after *U. prolifera* outbreak; FH2: Fenghuang Mountain after *U. prolifera* outbreak.

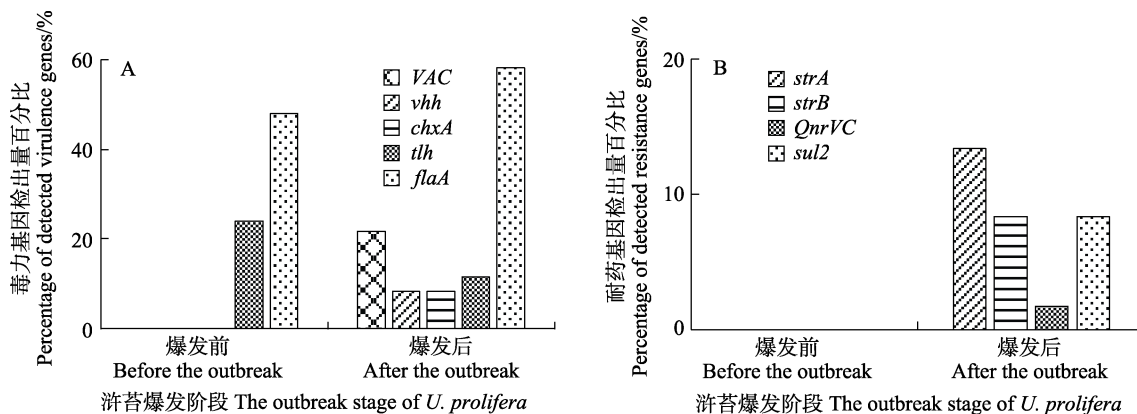


图 9 浒苔暴发前后优势菌的毒力基因与耐药基因检出率

Fig.9 Detection rate of virulence genes and resistance genes of the dominant bacteria before and after the outbreak of *U. prolifera*

A: 毒力基因; B: 耐药基因。
 A: Virulence genes; B: Resistance genes.

弧菌和欧文斯氏弧菌,也是海水养殖生物的常见病原菌(Wang *et al*, 2016; Yang *et al*, 2021; Goullden *et al*, 2012)。毒力和耐药风险评估表明,浒苔暴发后比暴

发前优势菌中的毒力基因(VAC、*vhh*、*chxA* 和 *flaA*)和耐药基因(*strA*、*strB*、*QnrVC* 和 *sul2*)的检出率明显升高。*strA*、*trB*、*QnrVC* 和 *sul2* 耐药基因检出率的

表 3 浒苔暴发前后优势菌的耐药基因与毒力基因分布

Tab.3 Distribution of resistance and virulence genes of dominant bacteria before and after the outbreak of <i>U. prolifera</i>		毒力基因 Virulence genes					耐药基因 Resistance genes			
项目 Item		VAC	vhh	tlh	chxA	flaA	strA	strB	QnrVC	sul2
优势菌种 Dominant bacteria	长巨牡蛎弧菌 <i>V. gigantis</i>	0	0	6	0	11	0	0	0	0
	塔斯玛尼亚弧菌 <i>V. tasmaniensis</i>	0	0	4	0	6	0	0	0	0
	大西洋弧菌 <i>V. atlanticus</i>	0	0	2	0	4	0	0	0	0
	灿烂弧菌 <i>V. splendidus</i>	0	0	1	0	4	0	0	0	0
	嗜环弧菌 <i>V. cyclitrophicus</i>	0	1	1	0	2	0	0	0	0
	强壮弧菌 <i>V. fortis</i>	0	0	1	0	9	3	2	0	2
	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	10	0	2	0	9	1	0	1	1
	欧文斯氏弧菌 <i>V. owensii</i>	1	4	1	0	4	2	2	0	1
	塔氏弧菌 <i>V. tubiashii</i>	0	0	1	0	1	1	1	0	1
	海生弧菌 <i>V. maritimus</i>	0	0	0	0	5	1	0	0	0
	霍乱弧菌 <i>V. cholerae</i>	1	0	0	3	2	0	0	0	0
	齐氏弧菌 <i>V. chagasii</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	加勒比弧菌 <i>V. caribbeanicus</i>	1	0	1	0	1	0	0	0	0
	轮虫弧菌 <i>V. rotiferianus</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0
总检出量 Total	暴发前 Before outbreak	0	0	13	0	26	0	0	0	0
	暴发后 After outbreak	13	5	7	3	35	8	5	1	5

升高增强了细菌产生氨基糖苷类药物、喹诺酮类药物和磺胺类药物等水产养殖常用抗菌药物耐药性的风险，同时增强了耐药基因的传播风险(李十盛等, 2021)。VAC、vhh、chxA 和 flaA 毒力基因检出率的升高表明海水养殖环境中致病性弧菌的种类和数量增多，同时，由于细菌具有携带和传播毒力基因的潜在风险，也大大增强了海洋生物的疾病发生风险(Yu et al, 2023)。

研究发现，浒苔暴发前后海洋环境中的各环境因子和病原菌的群落结构发生变化。在开放体系中，藻类大量繁殖常常受到可利用的碳含量的限制，而细菌能够驱动碳循环，在开放的藻类培养体系中增加异养细菌可以提高藻类的产量，因此，细菌能通过驱动水

体碳循环改变水体环境，使之更适合浒苔的生长，为浒苔的暴发创造良好的条件(Bai et al, 2015)。浒苔腐烂分解过程中会与水中的其他生物竞争营养、产生有毒的氨氮和硫化氢，同时，浒苔会导致水体缺氧、变酸，对海水养殖动物的生存造成威胁(刘牧时, 2021; Wang et al, 2011)。研究表明，有浒苔池塘细菌群落的多样性和丰富度高于无浒苔池塘，浒苔的大量生长会对细菌群落结构产生严重影响，增加对海水养殖生物的潜在性威胁(Lin et al, 2017)。本研究中，浒苔暴发后细菌的群落结构发生变化，可培养弧菌的种类和数量均增多，增加了对海水养殖生物的潜在性威胁。浒苔对 Cd、Cu 等重金属离子具有富集作用(郭赣林等, 2011)。本研究中，浒苔暴发后其聚集地的藻体中 Cd、

Cu、Hg、Zn 离子的含量均显著升高, 说明浒苔不仅能富集 Cd 离子和 Cu 离子, 对 Hg 离子和 Zn 离子同样具有吸附作用, 藻体中重金属离子含量的升高容易在许多食藻动物体内进行富集, 进而对水产品质量和人类健康产生威胁。

本研究通过对浒苔暴发前后青岛市近岸环境生态基本属性变化、水体和藻体中理化因子及可培养细菌丰度和种类的变化、优势菌常见毒力基因和耐药基因的分布变化等进行研究, 分析了浒苔暴发对青岛市沿岸水体和藻体中可培养细菌多样性以及环境生态特性的影响, 为黄渤海近岸海域浒苔绿潮防控、海洋生态保护、水产健康养殖和公共卫生治理提供了理论依据。

参 考 文 献

- BAI X, LANT P, PRATT S. The contribution of bacteria to algal growth by carbon cycling. *Biotechnology and Bioengineering*, 2015, 112(4): 688–695
- CHEN G Y, CAO X Y, SONG C L, *et al.* Adverse effects of ammonia on nitrification process: The case of Chinese shallow freshwater lakes. *Water Air and Soil Pollution*, 2010, 210(1): 297–306
- CLOWES L A, FRANCESCONI K A. Uptake and elimination of arsenobetaine by the mussel *Mytilus edulis* is related to salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2004, 137(1): 35–42
- FRANCESCONI K A, KUEHNELT D. Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000–2003. *Analyst*, 2004, 129(5): 373–395
- GE H X, CHEN Z, LI J, *et al.* Effects of temperature on the growth rate and nitrogen uptake of *Ulva prolifera*. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(6): 138–144 [葛红星, 陈钊, 李健, 等. 温度对浒苔生长及不同氮源吸收特性的影响. *渔业科学进展*, 2019, 40(6): 138–144]
- GOULLDEN E F, HALL M R, BOURNE D G, *et al.* Pathogenicity and infection cycle of *V. owensii* in larviculture of the ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*). *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(8): 2841–2849
- GUO G L, ZHU M, XU J T, *et al.* Biosorption of Cu^{2+} and Cd^{2+} by *Enteromorpha prolifera* and their physiological responses. *Marine Environmental Science*, 2011, 30(6): 850–852, 857 [郭赣林, 朱明, 徐军田, 等. 浒苔对重金属 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的生物吸附及其生理反应. *海洋环境科学*, 2011, 30(6): 850–852, 857]
- HARDISON A K, CANUEL E A, ANDERSON I C, *et al.* Fate of macroalgae in benthic systems: Carbon and nitrogen cycling within the microbial community. *Marine Ecology Progress*, 2010, 414: 41–55
- JI Q X, ZHAO X W, ZHANG Z. Spatial and temporal distribution characteristic of the *Enteromorpha prolifera* in the Jiangsu coastal area and their influence on the ecological environment. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2015, 46(1): 61–64 [吉启轩, 赵新伟, 章志. 江苏海域浒苔时空分布特征及对海洋环境的影响. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2015, 46(1): 61–64]
- KAWABE M, KAWABE M. Temporal and spatial characteristics of chemical oxygen demand in Tokyo Bay. *Journal of Oceanography*, 1997, 53: 19–26
- LESKINEN E, ALSTROM-RAPAPORT C, PAMILO P. Phylogeographical structure, distribution and genetic variation of the green algae *Ulva intestinalis* and *U. compressa* (Chlorophyta) in the Baltic Sea area. *Molecular Ecology*, 2004, 13(8): 2257–2265
- LI S S, GAO H, ZHAO F Q, *et al.* Research progress on the occurrence and influencing factors of antibiotic resistance genes in aquaculture environment. *China Environmental Science*, 2021, 41(11): 5314–5325 [李十盛, 高会, 赵富强, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因的研究进展. *中国环境科学*, 2021, 41(11): 5314–5325]
- LIN G R, SUN F L, WANG C Z, *et al.* Assessment of the effect of *Enteromorpha prolifera* on bacterial community structures in aquaculture environment. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0179792
- LIU M S. The effect of decay *Enteromorpha prolifera* on seawater ecological environment. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2021, 52(3): 466–469 [刘牧时. 腐烂浒苔对海洋生态的影响. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2021, 52(3): 466–469]
- LUO M B, LIU F, XU Z L. Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. *Aquatic Botany*, 2012, 100: 18–24
- MENG Z, ZHANG H L, LIU X F, *et al.* Toxic effects of acute ammonia stress on young turbot *Scophthalmus maximus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(2): 51–60 [孟振, 张鸿丽, 刘新富, 等. 氨氮急性胁迫对大菱鲆幼鱼的毒性效应. *渔业科学进展*, 2020, 41(2): 51–60]
- Ministry of Natural Resources. 2022 Bulletin of China marine disaster. *China Natural Resources News*, 2023-4-5 [自然资源部. 2022 年中国海洋灾害公报. *中国自然资源报*, 2023-4-5]
- OGAWA T, OHKI K, KAMIYA M. High heterozygosity and phenotypic variation of zooids in apomictic *Ulva prolifera* (Ulvophyceae) from brackish environments. *Aquatic Botany*, 2015, 120: 185–192
- SCHAEFFER R, FRANCESCONI K A, KIENZL N, *et al.* Arsenic speciation in freshwater organisms from the river Danube in Hungary. *Talanta*, 2006, 69(4): 856–865
- WANG C Z, SUN F L, HOU D Y, *et al.* Study on the microbial characteristics of seawater pond based on *Enteromorpha* bloom. *Haiyang Xuebao*, 2017, 39(4): 107–116 [王春忠, 孙富林, 侯代云, 等. 基于浒苔暴发海水池塘的微生物生态特征研究. *海洋学报*, 2017, 39(4): 107–116]
- WANG C, YU R C, ZHOU M J. Acute toxicity of live and

- decomposing green alga *Ulva (Enteromorpha) prolifera* to abalone *Haliotis discus hannai*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(3): 541–546
- WANG X, ZHANG Y, Q G, *et al.* A novel pathogenic bacteria (*Vibrio fortis*) causing enteritis in cultured seahorses, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. Journal of Fish Diseases, 2016, 39(6): 765–769
- WANG Y, YAO Z T, ZHU Y J, *et al.* Seasonal variation of nutrients and eutrophication of 2019 in Bohai Sea, China. Marine Environmental Science, 2021, 40(6): 915–921 [王燕, 姚振童, 祝艳君, 等. 2019 年渤海氮磷营养盐季节变化及富营养化状况. 海洋环境科学, 2021, 40(6): 915–921]
- WITT V, WILD C, ANTHONY K R N, *et al.* Effects of ocean acidification on microbial community composition of, and oxygen fluxes through, biofilms from the Great Barrier Reef. Environmental Microbiology, 2011, 13(11): 2976–2989
- XIA B, MA S S, CUI Y, *et al.* Distribution of temperature, salinity, dissolved oxygen, nutrients and their relationships with green tide in *Enteromorpha prolifera* outbreak area of the Yellow Sea. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(5): 94–101 [夏斌, 马绍赛, 崔毅, 等. 黄海绿潮(浒苔)暴发区温盐、溶解氧和营养盐的分布特征及其与绿潮发生的关系. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 94–101]
- XIONG J B, ZHU J L, WANG K, *et al.* The temporal scaling of bacterioplankton composition: High turnover and predictability during shrimp cultivation. Microbial Ecology, 2014, 67(2): 256–264
- YANG B, ZHAI S Y, LI X, *et al.* Identification of *Vibrio alginolyticus* as a causative pathogen associated with mass summer mortality of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China. Aquaculture, 2021, 535: 736363
- YE N H, ZHANG X W, MAO Y Z, *et al.* ‘Green tides’ are overwhelming the coastline of our blue planet: Taking the world’s largest example. Ecological Research, 2011, 26(3): 477–485
- YU Y X, TANG M M, WANG Y G, *et al.* Virulence and antimicrobial resistance characteristics assessment of *Vibrio* isolated from shrimp (*Penaeus vannamei*) breeding system in south China. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 252(Suppl C): 114615

(编辑 马瑾艳)

Correlation Analysis of Bacterial Community Structure and Eco-Environmental Factors in Water and Algae Along Qingdao Coast Before and After the Outbreak of *Ulva prolifera*

LIU Ni^{1,3}, YU Yongxiang^{1,2}, WANG Yingeng^{1,2①}, ZHANG Zheng^{1,2}, WANG Chunyuan^{1,2}, LIAO Meijie^{1,2}, RONG Xiaojun^{1,2}, PANG Minghai¹, LI Jingze¹

(1. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, China; 3. School of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract Green tide is a harmful ecological phenomenon caused by the explosive proliferation or high aggregation of certain large green algae (such as *Ulva prolifera*) in seawater under specific environmental conditions, leading to discoloration of the water. The green tide formed by a large number of floating algae can not be effectively disposed of in a short period of time, which will lead to the accumulation and decay of green algae, thereby affecting the coastal ecological landscape. The outbreak of *U. prolifera* has been one of the main causes of green tide occurrences in the Yellow Sea since 2008. *U. prolifera* is an algal plant belonging to the family Ulvaceae, which has the characteristics of high nutrient absorption efficiency, fast growth rate and strong reproductive ability, and is more competitive than other species. The explosive proliferation of a large number of *U. prolifera* during a short period of time has a serious impact on marine environmental ecology, aquaculture, tourism and public health and

① Corresponding author: WANG Yingeng, Email: wangyg@ysfri.ac.cn

safety. The study mainly investigated the environmental physicochemical parameters, cultivable microorganisms, dominant culture bacteria, and virulence and resistance genes of dominant bacteria in water and algae samples collected before and after the outbreak of *U. prolifera* in the main coastal areas of Qingdao were investigated. Environmental physicochemical factors, including the coliform and fecal coliform contents, chemical oxygen demand (COD), biochemical oxygen demand (BOD₅), ammonia nitrogen (NH₃-N) levels, nitrite, active phosphate, inorganic nitrogen, cyanide, sulfide, arsenic, mercury, copper, zinc, selenium, total chromium, nickel, cadmium, and lead ion levels, in the seawater were assessed. At the same time, the levels of organic carbon, sulfides, coliforms, fecal coliforms, and mercury, arsenic, cadmium, lead, zinc, copper, and chromium ions in the algae were measured. Research on cultivable microorganisms included an assessment of the abundance and composition of cultivable bacteria and *Vibrio* species in seawater and algae. The distribution of common virulence genes (VAC, *vhh*, *chxA*, *tlh*, and *flaA*) and resistance genes (*strA*, *strB*, *QnrVC*, and *sul2*) in the dominant *Vibrio* bacteria was examined to evaluate the potential virulence risk of the dominant *Vibrio* bacteria. Comparative analysis results showed that after the outbreak of *U. prolifera*, the COD, NH₃-N, inorganic nitrogen, arsenic ion, and active phosphate levels in the coastal waters of Qingdao increased significantly ($P < 0.05$), and the levels of dissolved oxygen and cadmium, lead, chromium, copper, and other metal ions decreased significantly ($P < 0.05$). The organic carbon content in the algal samples from the aggregated areas of *U. prolifera* was lower than that from non-aggregated areas. In contrast, the content of coliforms, fecal coliforms, sulfide, mercury, cadmium, zinc, and copper ions significantly increased compared to that in open areas ($P < 0.05$). Moreover, the proportion of *Vibrio* bacteria increased from 7% to 45%, representing an increase of 38%. The bacterial identification results based on 16S rDNA showed that before the outbreak of *U. prolifera*, there were 79 dominant bacterial and 62 *Vibrio* strains in the coastal waters and algae bodies of Qingdao, belonging to 22 species. The main *Vibrio* species were *V. gigantis*, *V. tasmaniensis*, and *V. atlanticus*. After the outbreak of *U. prolifera*, 79 dominant bacterial and 65 *Vibrio* strains were isolated, belonging to 24 species, with the main *Vibrio* species being *V. fortis*, *V. alginolyticus*, and *V. owensii*. The distribution of virulence genes (VAC, *vhh*, *chxA*, *tlh*, and *flaA*) and resistance genes (*strA*, *strB*, *QnrVC*, and *sul2*) in dominant *Vibrio* bacteria isolated from water bodies and algae before and after the outbreak of *U. prolifera* was tested. The results showed that only two virulence genes, *tlh* and *flaA*, were detected before the outbreak of *U. prolifera*, and no resistance genes were detected. Five virulence genes and four resistance genes were identified after the outbreak of *U. prolifera*. Correlation analysis between the number of cultivable bacteria and the environmental physicochemical factors in the water and algae of Qingdao coastal waters before and after the outbreak of *U. prolifera* showed that the abundance of cultivable bacteria and *Vibrio* species in the water and algae was correlated with environmental factors such as temperature, pH, NH₃-N, nitrite, inorganic nitrogen, active phosphate, total chromium, and nickel. The results revealed the impact of the outbreak of *U. prolifera* on the bacterial community structure and environmental ecology in the coastal environment of Qingdao. At the same time, the harmful microbial species caused by the outbreak of *U. prolifera* and the risk of virulence genes and drug resistance genes carried by the outbreak of *U. prolifera* were evaluated. The relevant research results provide a theoretical basis for the prevention and control of green tide, marine ecological protection, healthy aquaculture in the coastal waters of the Yellow Sea and Bohai Sea.

Key words *U. prolifera*; Green tide; Ecological environmental factors; Culturable bacteria; *Vibrio*; Virulence genes; Resistance genes